

## بررسی اثر حفاظتی عصاره دیواره بدن خیار دریایی گونه خلیج فارس (*Holothuria arenicola*) در پیشگیری از آسیب القایی میدان الکترومغناطیسی (Hz 50) بر اسپرم و هورمون های جنسی موش کوچک آزمایشگاهی نژاد Balb/C

نازنین واسعی<sup>۱</sup>، جواد بهارآرا<sup>۲\*</sup>، سعیده ظفر بالانژاد<sup>۱</sup>، الهه امینی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>دانشجو، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۲</sup>گروه زیست شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران؛ <sup>۳</sup>گروه زیست شناسی تکوین جانوری، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۰/۲۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۴/۱۶

### چکیده:

زمینه و هدف: مطالعات نشان داده است، برخی مواد طبیعی در جلوگیری از آسیب های میدان های الکترومغناطیسی موثر هستند، در پژوهش حاضر اثر حفاظتی عصاره بدن خیار دریایی خلیج فارس در برابر آسیب میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز، بر پارامترهای اسپرم موش Balb/C بررسی شده است.

روش بررسی: در این پژوهش تجربی آزمایشگاهی ۵۶ سر موش در ۷ گروه شاهد، شاهد آزمایشگاهی (حالت خاموش میدان الکترومغناطیسی)، گروه تجربی ۱ (تیمار با میدان) و گروه های تجربی ۲، ۳، ۴، ۵ (تیمار با غلظت های عصاره خیار دریایی و میدان) تقسیم بندی شدند. کلیه گروه ها ۱۰ روز، روزانه ۴ ساعت در معرض میدان قرار گرفتند. گروه های تجربی ۲ تا ۵، ۵، ۶ ساعت قبل تیمار با میدان، تحت تیمار عصاره بدن خیار دریایی (۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) قرار گرفتند؛ سپس سطح تستوسترون، LH و همچنین مورفولوژی، تحرک پذیری و حیات اسپرم ها اندازه گیری شد. تحلیل داده های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS، آزمون آنالیز داده های یک طرفه و تست توکی در سطح  $P < 0/05$  انجام شد.

یافته ها: تیمار با میدان الکترومغناطیسی بر سطح LH تغییر معنی دار نداشت ( $P > 0/05$ )؛ اما باعث ناهنجاری در سر اسپرم ( $0/22 \pm 0/008$ )، کاهش در تحرک ( $0/12$ )، حیات اسپرم ( $0/57 \pm 0/16$ )، مقدار تستوسترون ( $0/25 \pm 0/04$ ) و افزایش وزن موش ها ( $0/38$ ) نسبت به گروه شاهد گردید. بررسی پارامترهای اسپرمی و هورمونی نشان داد که تحت تأثیر عصاره خیار دریایی در مقایسه با گروه تجربی ۱، میزان ناهنجاری سر اسپرم در گروه تجربی ۴ ( $0/6 \pm 0/012$ ) کاهش و تحرک اسپرم در گروه تجربی ۵ ( $0/64 \pm 0/008$ ) افزایش یافت و همچنین بقاء اسپرم ( $0/77 \pm 0/01$ ) و مقدار تستوسترون ( $0/12 \pm 0/26$ ) در گروه تجربی ۴ افزایش نشان داد.

نتیجه گیری: یافته ها بیانگر آن است که عصاره خیار دریایی در مقابل اثرات مخرب میدان الکترومغناطیسی با فرکانس کم بر پارامترهای نظیر تحرک، حیات و مورفولوژی اسپرم اثر حفاظتی دارد.

واژه های کلیدی: خیار دریایی، میدان مغناطیسی، اسپرم، موش.

### مقدمه:

مغناطیسی ضعیف همراه است؛ بنابراین جمعیت هایی که در کشورهای پیشرفته یا در حال پیشرفت زندگی می کنند، همواره در معرض میدان های الکترومغناطیسی قرار دارند (۲،۱).

استفاده از نیروی الکتریکی نقش بسیار مهمی در رشد جوامع امروزی دارد، به گونه ای که اغلب وسایل امروزی چه در منازل، چه در صنعت و چه در اجتماع با نیروی الکتریکی یا برق کار می کنند که با تولید میدان

\*نویسنده مسئول: مشهد- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد- گروه زیست شناسی- مرکز تحقیقات بیولوژی کاربردی تکوین جانوری-

تلفن: ۰۵۱-۳۸۴۳۷۰۹۲، E-mail: baharara78@gmail.com

در سال های اخیر انبوهی از وسایل ساطع کننده امواج مغناطیسی که دارای طیف وسیعی از فرکانس ها هستند مانند وسایل الکتریکی خانگی، رادیو و تلویزیون و تلفن های همراه به منابع طبیعی این امواج افزوده شده است. مطالعات نشان داده اند، این میدان های الکترومغناطیسی بر رشد سلولی، مورفولوژی و شکل سلول ها، قابلیت سرطان زایی، تمایز سلولی و مرگ برنامه ریزی شده سلولی، تأثیرگذار هستند (۳)؛ لذا کشف و شناسایی ترکیباتی که بتواند موجب کاهش اثرات زیانبار میدان های الکترومغناطیسی شوند، اخیراً به طور فراوان مورد توجه محققین قرار گرفته است (۴).

فرآورده های طبیعی متابولیت های ثانویه ای هستند که از منابع خشکی، دریایی و میکروبی تولید شده و به دلیل دارا بودن اثرات بیولوژیک و دارویی با اثرات جانبی کم همواره مورد توجه پژوهشگران قرار داشته اند (۵). مطالعات اخیر نشان داده اند که برخی از مواد مغذی که از منابع طبیعی به ویژه از گیاهان مشتق شده اند، در جلوگیری از ناهنجاری های تولید مثلی، ناباروری و بیماری های مرتبط با دستگاه تولید مثل القا شده توسط امواج الکترومغناطیسی موثر هستند (۴). اکوسیستم دریایی دارای تنوع وسیعی از موجودات دریایی است که محدوده وسیعی از ترکیبات فعال زیستی با تنوع ساختاری زیاد را تولید می کنند، در این میان خیار دریایی یکی از موجودات دریایی از شاخه خارپوستان و رده خیارسانان است که دارای پوست چرم و بدن ژلاتینی بوده و در آسیا از آن به عنوان یک راه حل سستی برای درمان برخی از بیماری ها از جمله فشار خون، آسم، روماتیسم، کاهش و سوختگی، آگزما، سرطان و ناتوانی جنسی استفاده می شود (۶، ۷).

خیار دریایی به دلیل دارا بودن خواص دارویی از جمله ضد توموری، ضد ویروسی، ضد انعقاد، ضد رگ زایی، ضد سرطان، ضد فشار خون بالا، ضد التهاب، ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی، ضد انعقادی و بهبود زخم در سطح وسیعی در جنوب شرق آسیا مورد استفاده قرار می گیرد (۸، ۹). چند مطالعه از

آسیب های میدان الکترومغناطیسی روی دستگاه تولید مثلی گزارش شده که در این راستا پژوهشگران اثر مخرب میدان های الکترومغناطیسی و اثر حفاظتی عنصر روی را بر تعداد و حرکت اسپرم ها بررسی کرده و گزارش کردند که میدان الکترومغناطیسی در روند اسپرماتوژنز آسیب رسان بوده و عنصر روی می تواند در پیشگیری از این آسیب ها موثر باشد (۱۰). مطالعات قبلی نشان داده اند که میدان های الکترومغناطیسی به عنوان یک فاکتور استرس زا می تواند موجب تغییر در سطوح هورمونی و ایمنی شده و ساختار و عملکرد دستگاه های بدن از جمله دستگاه تولید مثل را تحت تأثیر قرار دهند (۱۱).

مطالعات نشان داده است که سلول های دودمان اسپرماتوژنیک نسبت به پرتوها، امواج رادیویی و سایر طیف های الکترومغناطیسی بسیار حساس هستند (۱۰)؛ بنابراین تحقیق و بررسی بر روی ترکیباتی که بتواند در مقابل آسیب های القا شده توسط میدان مغناطیسی بر روی سلول های زایای دستگاه تولید مثلی اثر نقش پیشگیری کننده داشته باشد، مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار دارد. با توجه به خاصیت آنتی اکسیدانی خیار دریایی و خواص درمانی ترکیبات فعال آن، از آن جایی که تا به حال اثر عصاره خیار دریایی بر آسیب القاء شده توسط میدان الکترومغناطیسی بر روی سیستم تناسلی در مورد بررسی قرار نگرفته است؛ لذا در پژوهش حاضر اثر حفاظتی عصاره خیار دریایی خلیج فارس بر آسیب القاء شده توسط میدان بر روی اسپرم و پارامترهای مرتبط در موش کوچک آزمایشگاهی بررسی شده است.

### روش بررسی:

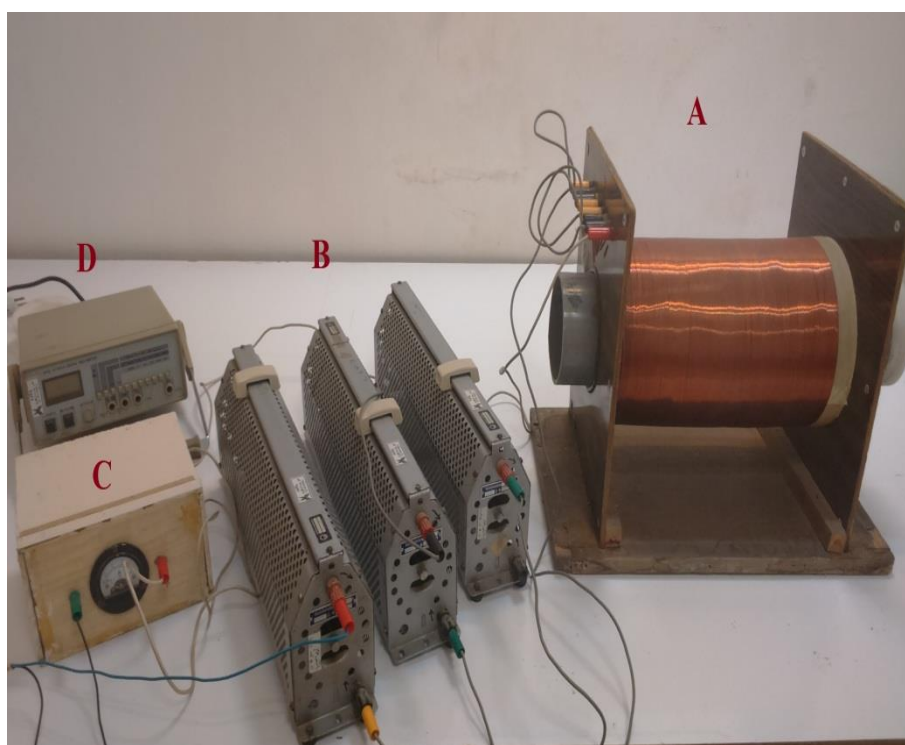
خیار دریایی (*Holothuria arenicola*) گونه خلیج فارس از سواحل قشم جمع آوری و به آزمایشگاه تحقیقات مرکزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد انتقال داده شد و بر اساس روش های مورفومتریک شناسایی صورت گرفت. برای تهیه عصاره خیار دریایی

ابتدا محتویات داخلی خیار دریایی را تخلیه، دیواره بدن را خشک نموده و پودر تهیه کردیم؛ سپس هر گرم پودر دیواره بدن خیار دریایی با ۱۰ میلی لیتر متانول مطلق (Merck, Germany) مخلوط نموده و در تاریکی به مدت ۷۲ ساعت بر روی شیکر (Heidolph, Germany) قرار دادیم. در ادامه عصاره را با کاغذ صافی واتمن ۱۱ فیلتر و سانتریفوژ کردیم؛ سپس عصاره را درون آون (Memmert, USA) قرار دادیم تا خشک شود و تا زمان استفاده به فریزر ۸۰- (Pars. Iran) جهت نگهداری منتقل کردیم (۱۲،۶).

برای انجام این آزمایش تجربی آزمایشگاهی، تعداد ۵۶ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد Balb/c موش های ۲ ماهه با محدوده وزنی ۲۸-۲۴ گرم از موسسه سرم سازی رازی مشهد خریداری و تا شروع آزمایش به منظور تطابق با شرایط به مدت ۲ هفته در اتاق حیوانات، در درجه حرارت  $21 \pm 2$ ، رطوبت ۶۵٪ تا ۷۰٪ با دوره نوری طبیعی (۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت

تاریکی) در قفس های ویژه ای که هر هفته ۲ بار شستشو و ضد عفونی می شدند، نگهداری شدند و آب و غذا در اختیار آن ها قرار داده شد.

برای تولید میدان الکترومغناطیس مورد نظر از مدار ویژه مولد میدان الکترومغناطیس با شدت ۲۰۰ گاوس استفاده شد (طراحی و ساخته شده در آزمایشگاه تحقیقاتی زیست شناسی تکوینی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد توسط بهارآرا، اشرف) که شامل بوبین، ۳ رئوستا، خازن و آمپر متر بود. بوبین از مقادیر مناسبی از سیم مسی تشکیل شد که حول یک لوله از جنس PVC با توجه به محاسبه شدت میدان الکترومغناطیسی مورد نیاز از رابطه  $B = \mu n I$  پیچیده شده بود ( $B =$  شدت میدان مغناطیسی بر حسب تسلا،  $\mu = 4\pi \times 10^{-7}$ ،  $n =$  تعداد دور در واحد طول،  $I =$  شدت جریان)؛ همچنین رئوستا برای ایجاد تغییر مقدار جریان و خازن با ظرفیت بالا برای جلوگیری از خود القایی دستگاه (۷ خازن با ظرفیت ۳۰ میکروفاراد) استفاده شد (تصویر شماره ۱) (۱۳).



تصویر شماره ۱: سیستم مولد میدان الکترومغناطیس، A: بوبین، B: رئوستا، C: خازن، D: ولت سنچ

در این پژوهش، موش های ۳-۲/۵ ماهه به طور تصادفی به ۷ گروه ۸ تایی تقسیم شدند:

گروه شاهد که در آن موش ها در شرایط طبیعی در درون اتاق پرورش حیوانات نگهداری شدند، گروه شاهد آزمایشگاهی به مدت ۱۰ روز و هر روز به مدت ۴ ساعت در درون دستگاه خاموش و بدون میدان قرار گرفتند و گروه های تجربی که طی ۱۰ روز و هر روز به مدت ۴ ساعت در معرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز قرار گرفتند، گروه های تجربی ۲،۳،۴،۵،۶ ساعت قبل از میدان به ترتیب عصاره خیار دریایی با دوزهای ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم دریافت کردند؛ سپس در معرض میدان مغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۲۰۰ گاوس قرار گرفتند (۱۴).

پس از پایان تجربیات ابتدا موش ها وزن گیری شدند، سپس موش ها را با اتر (Merck, Germany) بیهوش و از قلب حیوان خون گیری انجام شد (۱۶، ۱۵)، سپس توسط سانتریفیوژ (Sigma, USA) خون در دور ۳۰۰۰، ۱۵ دقیقه سرم رویی را جدا نموده و جهت ارزیابی سطح هورمون تستوسترون و LH به آزمایشگاه تشخیص طبی انتقال یافت. جهت بررسی تحرک، حیات و مورفولوژی اسپرم ها، بخش دمی اپیدیدیم را به صورت قطعات کوچک تقسیم و در محیط کشت سلولی DMEM (ایده زیست، ایران) قرار گرفته شد. برای سنجش تحرک اسپرم ها (Sperm motility)، یک قطره از سوسپانسیون اسپرمی را روی لام ریخته، تعداد اسپرم های متحرک و غیر متحرک را توسط میکروسکوپ نوری (Olympus, Japan) شمرده شد که در این آزمون ۳ نوع حرکت پیشرونده (Progressive motility) که اسپرم به طور فعال به صورت خطی یا در یک دایره حرکت می کند، غیر پیشرونده (Non-progressive motility) که اسپرم به سختی سر یا دم را تکان می دهد و بدون حرکت (Immotile) که هیچ نوع حرکتی در اسپرم دیده نمی شود، مورد بررسی قرار گرفت، سپس حیات اسپرم ها را توسط رنگ آمیزی ائوزین مورد ارزیابی قرار دادیم. این

آزمون بر پایه میزان نفوذپذیری رنگ ائوزین به درون غشاء سلولی آسیب دیده و عدم نفوذ رنگ به درون غشا سالم است، در این روش وجود اسپرم با سر قرمز یا صورتی تیره به عنوان اسپرم مرده و اسپرم با سر سفید یا صورتی کم رنگ به عنوان اسپرم زنده در نظر گرفته می شود. برای انجام این روش ۵ میکرولیتر محلول ائوزین را با ۵ میکرولیتر محلول حاوی اسپرم مخلوط نموده، بر روی لام گذاشته و لامل گذاری صورت گرفت. پس از ۳۰ ثانیه میزان بقاء اسپرم ها را در زیر میکروسکوپ نوری بررسی گردید؛ همچنین جهت بررسی مورفولوژی اسپرم ها توسط روش پاپانیکولا، از محیط حاوی اسپرم ها ۱۰ میکرولیتر برداشته و اسمیر تهیه شد، سپس برای خشک شدن، لام را به مدت ۴ ساعت در معرض هوا قرار داده و رنگ آمیزی پاپانیکولا انجام پذیرفت، در آخر توسط میکروسکوپ نوری به بررسی ناهنجاری های اسپرم پرداخته شد (۱۷). جهت انجام این پژوهش تجربی پروتوکل اخلاق کار با حیوانات در تمام مراحل کار رعایت گردید.

داده های کمی پس از بررسی نرمال بودن آن ها با استفاده از نرم افزار SPSS، به کمک آنالیز واریانس یک طرفه و تست توکی در سطح  $P < 0.05$  تجزیه و تحلیل شد و میانگین بر اساس انحراف معیار  $\pm$  میانگین محاسبه شد.

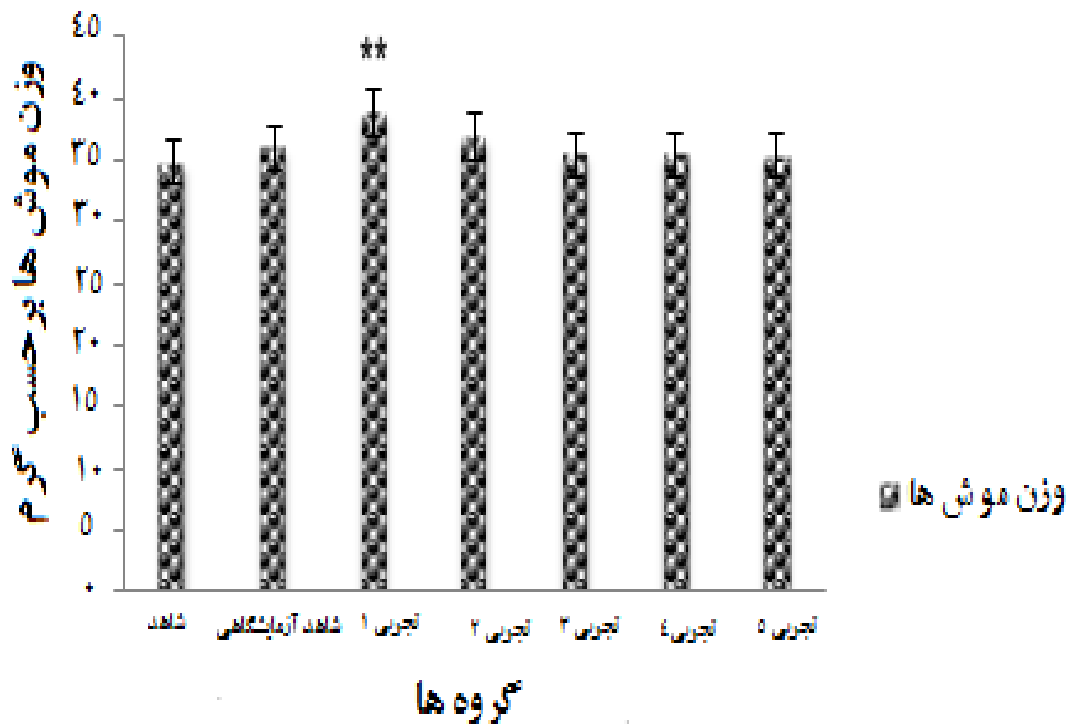
### یافته ها:

آنالیز آماری بین گروه های شاهد و شاهد آزمایشگاهی در پارامترهای بررسی شده بر روی اسپرم از جمله وزن موش ها، تحرک اسپرم، میزان حیات اسپرم ها و هورمون های تستوسترون و LH اختلاف معنی دار نشان نداد ( $P > 0.05$ ).

پس از انجام تجربیات، موش های همه گروه های آزمون (شاهد، شاهد آزمایشگاهی، تجربی ۱، تجربی ۲، تجربی ۳، تجربی ۴ و تجربی ۵) قبل از کشته شدن توزین شدند. مقایسه میانگین وزن موش ها نشان داد که در گروه تجربی ۱ ( $39 \pm 0.53g$ )

افزایش وزن القا شده توسط میدان کاهش یافته و اختلاف معنی داری با گروه شاهد نداشته باشد (نمودار شماره ۱).

نسبت به گروه شاهد ( $35 \pm 0.76g$ ) افزایش معنی داری مشاهده شد ( $P < 0.01$ ). از طرفی کاربرد توام میدان و غلظت های مختلف عصاره خیار دریایی موجب شد که

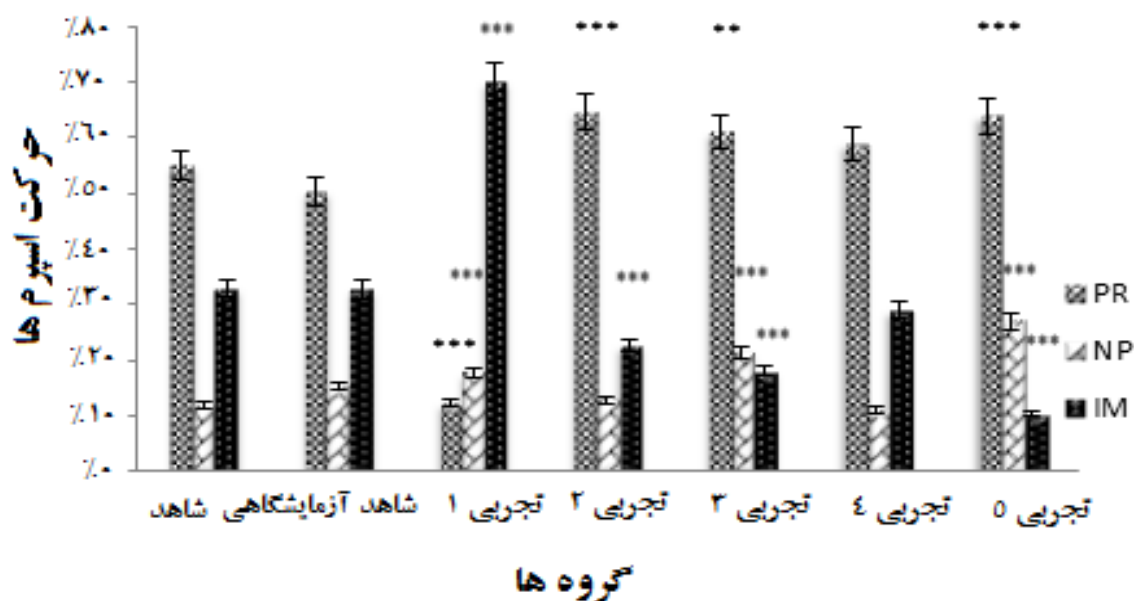


**نمودار شماره ۱:** نمودار تغییر وزن موش ها در گروه شاهد و گروه های تیماری تجرئی ۱ (تحت امواج)، تجرئی ۲ (تیمار با دوز ۲۵ خیار دریایی)، تجرئی ۳ (تیمار با دوز ۵۰ خیار دریایی)، تجرئی ۴ (تیمار با دوز ۱۰۰ خیار دریایی) و تجرئی ۵ (تیمار با دوز ۲۰۰ خیار دریایی)

$P < 0.01$  .\*\*

گروه تجرئی ۱ ( $18 \pm 0.21$ ) ( $P < 0.001$ ) نسبت به شاهد ( $12 \pm 0.08$ ) بوده و در گروه های تجرئی دیگر کاهش یافته که معنی دار نبوده؛ اما اختلاف معنی داری در گروه تجرئی ۳ ( $21 \pm 0.12$ ) و ۵ ( $27 \pm 0.08$ ) ( $P < 0.001$ ) نشان داد، در IM (بدون حرکت) افزایش معنی داری در گروه تجرئی ۱ ( $70 \pm 0.49$ ) و کاهش معنی داری در سایر گروه های تجرئی نسبت به شاهد ( $33 \pm 0.24$ ) مشاهده شد ( $P < 0.001$ ) (نمودار شماره ۲).

تحرك اسپرم ها با توجه به ۳ حالت حرکت پیشرونده، غیر پیشرونده، بدون حرکت بررسی شد، نتایج آنالیز آماری نشان داد که PR (حرکت پیشرونده) کاهش معنی دار در گروه تجرئی ۱ ( $12 \pm 0.29$ ) ( $P < 0.001$ ) و افزایش معنی دار در گروه های تجرئی ۲ ( $65 \pm 0.29$ )، ۳ ( $61 \pm 0.16$ ) و ۵ ( $64 \pm 0.08$ ) ( $P < 0.001$ )،  $P < 0.01$  و  $P < 0.001$ ) نسبت به گروه شاهد ( $55 \pm 0.16$ ) داشت، این در حالی است که NP (حرکت غیر پیشرونده) دارای افزایش معنی دار در

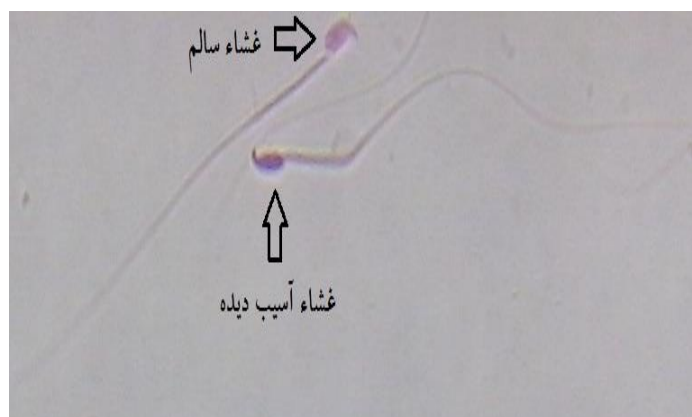


**نمودار شماره ۲:** بررسی شاخص های تحرک اسپرم در گروه شاهد و گروه های تیماری تجربی ۱ (تحت امواج)، تجربی ۲ (تیمار با دوز ۲۵ خیار دریایی)، تجربی ۳ (تیمار با دوز ۵۰ خیار دریایی)، تجربی ۴ (تیمار با دوز ۱۰۰ خیار دریایی) و تجربی ۵ (تیمار با دوز ۲۰۰ خیار دریایی)

\*\*\*:  $P < 0.001$ ; \*\*:  $P < 0.01$ ; \*:  $P < 0.05$

داخل غشا اسپرم افزایش معنی دار در غشاء آسیب دیده در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه شاهد مشاهده شد ( $P < 0.01$ )؛ در حالی که در سایر گروه های تجربی کاربرد توام میدان و غلظت های مختلف عصاره خیار دریایی، میزان بقاء اسپرم ها را افزایش داد و اختلاف معنی دار با گروه شاهد مشاهده نشد (تصویر شماره ۲ و جدول شماره ۱).

در گروه تجربی ۱ حرکت پیشرونده کاهش معنی دار و میزان حرکت غیر پیشرونده و بدون حرکت در مقایسه با شاهد افزایش معنی دار مشاهده شد ( $P < 0.001$ )؛ اما در برخی گروه های تجربی دیگر نسبت به گروه شاهد حرکت غیر پیشرونده و بدون حرکت به طور معنی دار کاهش و حرکت پیشرونده افزایش یافته است. بر اساس نفوذ رنگ به



**تصویر شماره ۲:** بررسی حیات اسپرم در گروه های شاهد، شاهد آزمایشگاهی و گروه های تجربی رنگ آمیزی اتوزین، درشت نمایی  $400\times$ .

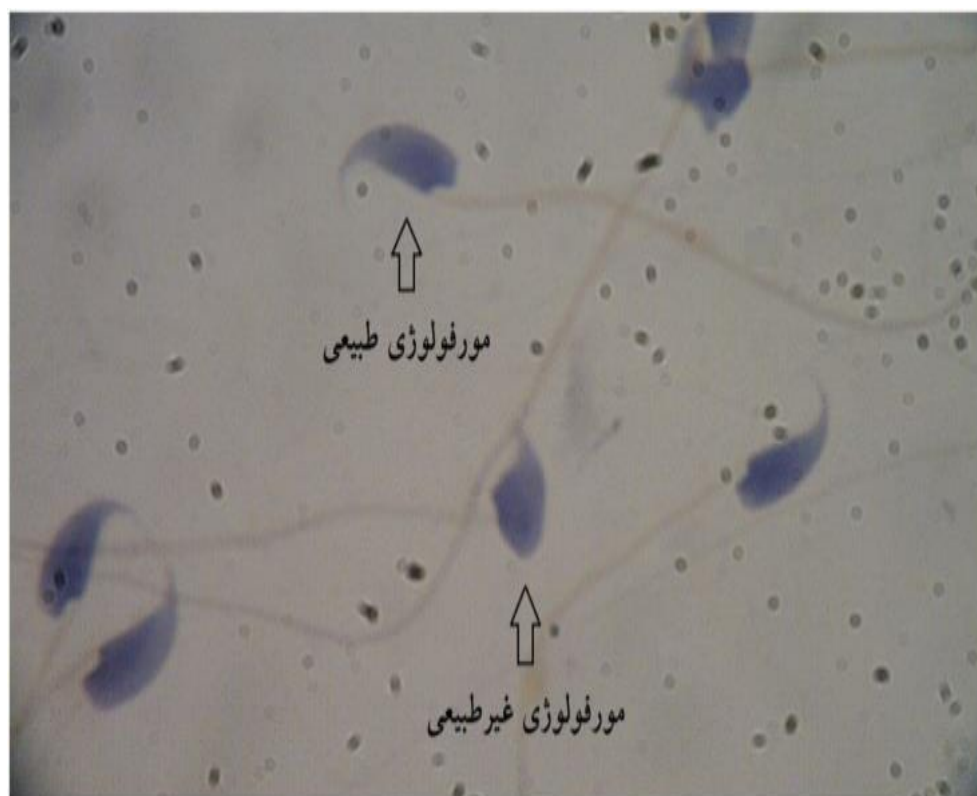
### جدول شماره ۱: بررسی حیات اسپرم با رنگ آمیزی اتوزین

متغیرها	غشا سالم	غشا ناسالم
شاهد	۷۱±۰/۰۹	۲۵±۰/۰۳
شاهد آزمایشگاهی	۶۷±۰/۰۲	۳۰±۰/۰۲
گروه تجربی ۱	۴۳±۰/۱۶***	۵۷±۰/۱۶***
گروه تجربی ۲	۷۳±۰/۰۴	۲۷±۰/۰۳
گروه تجربی ۳	۷۵±۰/۰۳	۲۴±۰/۰۲
گروه تجربی ۴	۷۷±۰/۰۱	۲۰±۰/۰۱
گروه تجربی ۵	۷۶±۰/۰۹	۲۳±۰/۰۱

\*\*\*:  $P < 0.01$

شاهد نشان داد ( $P < 0.01$ )؛ این در حالی است که مورفولوژی طبیعی در گروه های تجربی کاربرد توام میدان با غلظت های مختلف عصاره خیار دریایی اختلاف معنی دار با گروه شاهد نشان نداد (تصویر شماره ۳ و جدول شماره ۲).

در این آزمایش رنگ آمیزی پاپانیکولا به منظور ارزیابی تغییرات مورفولوژی اسپرم تحت تأثیر میدان الکترومغناطیسی و عصاره خیار دریایی صورت گرفت، بررسی مورفولوژی بین گروه های تجربی و شاهد، کاهش معنی داری در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه



تصویر شماره ۳: بررسی مورفولوژی اسپرم در گروه های شاهد، شاهد آزمایشگاهی و گروه های تجربی رنگ آمیزی پاپانیکولا، درشت نمایی  $\times 400$ .

جدول شماره ۲: بررسی مورفولوژی اسپرم با رنگ آمیزی پاپانیکولا

متغیرها	گروه ها	درصد مورفولوژی طبیعی	درصد مورفولوژی غیرطبیعی
شاهد		۹۶±۰/۰۰۸	۴±۰/۰۰۸
شاهد آزمایشگاهی		۸۱±۰/۰۲۹	۱۹±۰/۰۲۹
تجربی ۱		۷۸±۰/۰۱۶***	۲۲±۰/۰۱۶***
تجربی ۲		۹۱±۰/۰۳۱	۹±۰/۰۳۱
تجربی ۳		۸۹±۰/۰۵۴	۱۱±۰/۰۵۴
تجربی ۴		۹۴±۰/۰۱۲	۶±۰/۰۱۲
تجربی ۵		۹۵±۰/۰۱۲	۵±۰/۰۱۲

P&lt;۰/۰۱

بررسی میزان هورمون تستوسترون نشان داد که در گروه تجربی ۱ نسبت به شاهد کاهش معنی داری ( $P<۰/۰۰۱$ ) وجود دارد؛ در حالی که در سایر گروه ها نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی دار مشاهده نشد که بیانگر این مطلب است که تیمار توام میدان با عصاره های مختلف خیار دریایی تغییر فاحشی در سطح تستوسترون در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرده است. در رابطه با بررسی میزان LH نتایج نشان داد که مقدار این هورمون تفاوت معنی داری بین گروه های تجربی نسبت به گروه شاهد ندارد (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳: هورمون تستوسترون در گروه تجربی ۱ و شاهد

متغیرها	تستوسترون (نانومول / لیتر)	هورمون لوتهینه کننده (واحد بین المللی / لیتر)
شاهد	۱/۵۸±۰/۳	۱/۱±۰/۰۸
شاهد آزمایشگاهی	۱/۰۶±۰/۱۲	۱/۱±۰/۱۴
گروه تجربی ۱	۰/۲۵±۰/۰۴*	۱/۳±۰/۰۴
گروه تجربی ۲	۰/۸۵±۰/۰۵	۱/۲±۰/۰۹۶
گروه تجربی ۳	۰/۸۶±۰/۰۵۶	۱/۳±۰/۰۷۴
گروه تجربی ۴	۱/۱۲±۰/۰۲۶	۱/۴±۰/۰۴۳
گروه تجربی ۵	۱/۳۶±۰/۰۳۳	۱±۰/۰۶۵

## بحث:

امروزه به کارگیری ترکیبات طبیعی که بتوانند موجب پیشگیری از آسیب های ناشی از میدان های الکترومغناطیسی شوند، یکی از اهداف مهم تحقیقات زیست پزشکی به شمار می رود. از آنجایی که ترکیبات طبیعی دریایی دارای اثرات زیستی، درمانی بوده و حداقل اثرات جانبی را در پی دارد، کاربرد این مواد می تواند اثر چشمگیری بر کاهش آسیب القا شده توسط پاتوژن ها داشته باشد.



نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز باعث افزایش معنی دار در وزن موش های تجربی ۱ (تیمار با میدان) نسبت به گروه شاهد شده است که Panagopoulous و همکاران طی مطالعه ای که انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که احتمالاً تأثیر میدان الکترومغناطیسی بر روی پمپ های سدیمی غشاء سلول ها باعث جذب مقدار زیادی آب و پرخوری ناشی از استرس شده که در نهایت وزن بدن افزایش یافته است که همسو با نتایج پژوهش حاضر می باشد (۱۸). به علاوه تحرک اسپرم ها در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه شاهد کاهش معنی دار داشت و در سایر گروه های تجربی نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی دار مشاهده نشد. میزان درصد غشا سالم نیز در گروه تجربی ۱ نسبت به شاهد کاهش معنی دار نشان داد و در گروه های تجربی تیمار شده با غلظت های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم، اختلاف معنی دار با گروه شاهد دیده نشد. نتایج فوق بیانگر آن است که عصاره دیواره بدن خیار دریایی توانسته است به طور وابسته به دوز از آسیب القا شده توسط میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز بر روی اسپرم ها (سلول های زایای اندام جنسی نر) ممانعت نماید.

یکی از پارامترهای مهم در ارزیابی آزمایشگاهی مایع منی، مورفولوژی اسپرم است (۱۹). مایع منی تنوعی از مورفولوژی اسپرم ها را دارد که این تنوع سبب شده است که در ارزیابی مورفولوژی اسپرم از اهمیت ویژه ای برخوردار باشد. مشخص شده است که میزان حاملگی و بارداری ارتباط معنی داری با مورفولوژی اسپرم دارد (۲۰). در این پژوهش، افزایش ناهنجاری در سر اسپرم در گروه تجربی ۱ نسبت به شاهد مشاهده شد که در سایر گروه های تجربی تحت تیمار با عصاره خیار دریایی کاهش این ناهنجاری دیده شد. بررسی میزان هورمون تستوسترون در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه شاهد کاهش معنی داری نشان داد؛ در حالی که کاربرد توام میدان با غلظت های مختلف خیار دریایی در

گروه های تجربی دیگر اثر میدان را خنثی کرد که حمایت خواه جهرمی و همکاران طی مطالعه ای که انجام دادند، دریافتند که اثرات مخرب میدان مستقیماً در بافت بیضه و سلول های بینابینی ایجاد می شود. در نتیجه تستوسترون در مواجهه با میدان کاهش پیدا کرده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (۲۱). در رابطه با بررسی میزان LH اختلاف معنی دار بین سطح LH در گروه ها مشاهده نشده است و همچنین بررسی آهنگر پور و همکاران نشان داد که عدم تغییر LH احتمالاً به دلیل تحت تأثیر قرار نگرفتن غده هیپوفیز توسط میدان بوده است که نتایج با مطالعه حاضر همسو می باشد (۲۲).

گزارشات بسیاری مبنی بر اثرات میدان های الکترومغناطیسی بر روی سیستم های بیولوژیکی موجود زنده موجود بوده، طوری که برخی مطالعات گزارش نموده اند که میدان الکترومغناطیسی می تواند بر ساختار غدد تناسلی، روند افزایشی تعداد فولیکول های تخمدانی و همچنین سیستم آندوکروینی و کاهش باروری اثرگذار باشد (۱۳).

طبق گزارشی که در سال ۲۰۱۴ ارائه شد، مواجهه با امواج تلفن های همراه و مواجهه توام امواج تلفن های همراه و صدای شدید می تواند موجب کاهش معنی دار تحرک اسپرم شود؛ همچنین نشان داده شد که مواجهه با این ۲ عامل می تواند غلظت هورمون جنسی تستوسترون در رت ها را کاهش داده و زمینه اختلال در باروری را فراهم نماید (۲۳). یافته های این پژوهشگران با نتایج پژوهش حاضر مبنی بر کاهش تحرک اسپرم و سطح هورمون تستوسترون تحت تأثیر میدان با فرکانس ۵۰ هرتز مطابقت دارد.

در سال ۲۰۱۵ مطالعاتی روی اثر حفاظتی Administered rolipram بر سیستم تناسلی مرد آسیب دیده با امواج صورت گرفت و نشان داده شد که درمان با Rolipram منجر به بهبود تغییرات ایجاد شده با تشعشع شده و باعث افزایش تعداد و تحرک اسپرم می شود (۲۴).

در گزارش دیگری اثر میدان های الکترومغناطیسی بر باروری موش نر مورد بررسی قرار گرفته و گزارش شده که میدان های الکترومغناطیسی بسته به زمان در معرض قرار گیری می تواند اثرات متفاوتی بر ترشح هورمون ها بگذارد، به گونه ای که LH و تستوسترون در یک دوره زمانی روند افزایشی داشته؛ اما با افزایش مدت زمان روند کاهشی را در پیش گرفته اند (۲۵). در مقابل نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز بر سطح هورمون LH در موش کوچک تأثیر معنی داری نداشت.

آسیب های بیولوژیکی که میدان ها و امواج الکترومغناطیسی برای بدن در پی دارند، محققان را بر آن داشت که در پی شناخت مواد و ترکیباتی باشند که بتوانند اثر زیانبار میدان های الکترومغناطیسی را بر روی بافت بدن تعدیل کند؛ لذا فراورده ها و ترکیبات طبیعی مشتق از گیاهان و منابع دریایی به عنوان گزینه مناسبی در پیشگیری از اثرات سوء امواج مطرح شدند (۴).

در رابطه با تحقیقاتی که در مورد اثر حفاظتی فراورده های طبیعی صورت گرفته زاهدی فر و همکاران اثر چای سبز را در کاهش اختلالات میدان های الکترومغناطیسی بررسی کرده و نتیجه گرفتند که چای سبز می تواند در خنثی کردن اثرات مضر مواد شیمیایی فیزیکی آلاینده های محیطی مانند میدان های الکترومغناطیسی موثر باشد (۲۶). نتایج این پژوهشگران با نتایج حاصل از این پژوهش مبنی بر اثر حفاظتی عصاره خیار دریایی بر آسیب های القا شده توسط میدان های الکترومغناطیسی مطابقت دارد.

Gupta و همکاران در آزمایشی اثر حفاظتی عصاره آبی *Alstonia scholaris* را بر روی موش های در معرض تشعشع مورد بررسی قرار داده و نشان دادند که مصرف روزانه این عصاره به صورت خوراکی با دوز مشخص به موش ها میزان پراکسیداسیون لیپید و کلسترول را به طور قابل توجهی کاهش داده و نتیجه گرفتند که این عصاره اثر حفاظتی در برابر تغییرات بیوشیمیایی ناشی از تشعشع دارد (۲۷). نتایج پژوهش

حاضر نیز موید اثر حفاظتی فراورده های طبیعی در پیشگیری از اثرات مضر امواج الکترومغناطیسی است. در سال ۲۰۱۱ اثر حفاظتی فاموتیدین و ویتامین C بر روی آسیب سلولی اسپرماتوژنز موش در معرض امواج مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که فاموتیدین و ویتامین C اثر حفاظتی بر آسیب سلولی دودمان اسپرماتوژنیک ناشی از امواج دارد و می تواند اثر سمیت سلولی امواج را کاهش دهد (۲۸). یافته های پژوهش حاضر نیز نشان داد که عصاره خیار دریایی موجب پیشگیری از تغییرات مخرب میدان با فرکانس ۵۰ هرتز بر روی اسپرم می شود.

Wu و همکاران اثر حفاظتی خیار دریایی *Cucumaria frondosa* را روی استرس اکسیداتیو القا شده بر سلول های PC12 و SAMP8 موش بررسی کردند و دریافتند که فعالیت آنتی اکسیدانی خیار دریایی ممکن است باعث مهار آپوپتوز شود که نشان دهنده اثر حفاظتی خیار دریایی بر سلول های PC12 و SAMP8 است (۲۹).

## نتیجه گیری:

در مجموع یافته های حاصل از این پژوهش نشان داد که عصاره بدن خیار دریایی دارای اثر حفاظتی بر آسیب القا شده توسط میدان الکترومغناطیسی با فرکانس ۵۰ هرتز بر وزن موش ها، سطح هورمونی، مورفولوژی، تحرک، بقاء و تعداد اسپرم ها به عنوان سلول های حساس دودمان اسپرماتوژنیک است که این اثرات خیار دریایی را به عنوان کاندید مناسب جهت مطالعات بیشتر در پیشگیری از آسیب های اسپرمی مطرح می سازد.

## تشکر و قدردانی:

از همکاران محترم مرکز تحقیقاتی بیولوژی کاربردی تکوین جانوری دانشگاه آزاد اسلامی مشهد که در اجرای این طرح پژوهشی با کد مصوب ۱۱۱۳۰۵۱۷۹۳۲۰۰۵ همکاری داشتند، صمیمانه سپاسگزاری می شود.

## منابع:

1. Pazireh N, Keramati K, Abbasnia VS, Dorani D. The Effect of Electromagnetic Field (50HZ) on Gonads and Sex Hormone Levels in Male NMRI Mice. *Vet J Islam Garmsar Branch*. 2009; 5(1): 21-9.
2. Pazireh N, Yaghmaei P, Parivar K, Doranian D. The effect of electromagnetic field with 50HZ frequency on the lactatdehydrogenase and glucose concentration of NMRI mice. *J Animal Bio*. 2009; 1(1): 15-20.
3. Rajaei F, Mohammadian A. Effects of Extremely Low Frequency Electromagnetic Field on Mouse Liver Histology. *Qom Univ Med Sci J*. 2013; 6(4): 8-13.
4. Luo Q, Li J, Cui X, Yan J, Zhao Q, Xiang C. The effect of Lycium barbarum polysaccharides on the male rats reproductive system and spermatogenic cell apoptosis exposed to low-dose ionizing irradiation. *J Ethnopharmacol*. 2014; 154(1): 249-58.
5. Cragg GM, Newman DJ. Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1830(6): 3670-95.
6. Althunibat OY, Ridzwan BH, Taher M, Daud JM, Jauhari Arief Ichwan S, Qaralleh H. Antioxidant and cytotoxic properties of two sea cucumbers, *Holothuria edulis* lesson and *Stichopus horrens* Selenka. *Acta Biol Hung*. 2013; 64(1): 10-20.
7. Mohammadzadeh F, Ehsanpor M, Afkhami M, Mokhlesi A, Khazaali A, Montazeri S. Evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic effects of *Holothuria scabra* from the North Coast of the Persian Gulf. *J Mycol Med*. 2013; 23(4): 225-9.
8. Popov A, Artyukov A, Krivoshaoko O, Kozlovskaya E. Biological activities of collagen peptides obtained by enzymic Hydrolysis from Far-Eastern holothurians. *Am J Biomed Life Sci*. 2013; 1(1): 17-26.
9. Ibrahim HAH. Antibacterial carotenoids of three *Holothuria* species in Hurghada, Egypt. *Egypt J Aquat Res*. 2012; 38(3): 185-94.
10. Jasemi M, Kheradmand AR, Saki Gh, Zeinali M. Effects of electromagnetic fields and the protective effect of zinc on sperm number and motility of rats. *J Hamadan Uni Medi Sci*. 2009; 16(2): 5-11.
11. Parivar K, Nabiuni M, Golestanian N AE. Effect of low frequency electromagnetic fields on the spermatogenesis and blood serum protein of Balb/c mice. *J Cell Tissue*. 2011; 2(1): 47-56.
12. Li P, Huo L, Su W, RL, Deng C, Liu L, et al. Free radical-scavenging capacity, antioxidant activity and phenolic content of *Pouzolzia zeylanica*. *J Serbian Chem Society*. 2011; 76(5): 709-17.
13. Baharara J, Parivar K, Oryan S, Ashraf A. Effects of low frequency electromagnetic fields on gonads and fertility of female Balb/c mouse. *Arak Uni Medi Sci J*. 2006; 9 (2): 1-11.
14. Soltani M, Baharara J. Antioxidant and antiproliferative capacity of dichloromethane extract of *holothuria leucospilota* sea cucumber. *Int J Cell Mol Biotechnol*. 2014; 20 (14): 1-9.
15. Baharara J, Ashraf AR, Jafari MR, Helalat H. The effects of exposure to simulation cell phone waves on gonads of male mouse. *Arak Med Univ J*. 2007; 10(3): 8-16.
16. Singh H, Kumar C, Bagai U. Effect of Electromagnetic Field on Red Blood Cells of Adult Male Swiss albino Mice. *Int J Appl Sci*. 2013; 5(1): 175-82.
17. Salahshoor MR, Jalili C, Khazaei M, Khani F. Effects of Curcumin on Reproductive Parameters in Male Mice. *J Clin Res Paramed Sci*. 2012; 1(3): 31-7.
18. Panagopoulos DJ, Karabarbounis A, Margaritis LH. Mechanism for action of electromagnetic fields on cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 298(1): 95-102.
19. Al-Makhzoomi A, Lundeheim N, Haard M, Rodriguez-Martinez H. Sperm morphology and fertility of progeny-tested AI dairy bulls in Sweden. *Theriogenology*. 2008; 70(4): 682-91.
20. Nallella KP, Sharma RK, Aziz N, Agarwal A. Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. *Fertil Steril*. 2006; 85(3): 629-34.
21. Gessner BD, Beller M. Protective effect of conventional cooking versus use of microwave ovens in an outbreak of salmonellosis. *Am J Epidemiol*. 1994; 139(9): 903-9.
22. Ahangarpour A, Fathi-Moghaddam H, Birgani MJ, Shahbazian H, Badavi M. Hypothalamic-pituitary-gonadal axis responses of the male rats to short and long time alternative magnetic fields (50 Hz) exposure. *J Res Med Sci*. 2009; 14(4): 231-8.

23. Ghanbari Kakavandi M, Mortazavi SB, Khavanin A, Khazaei ASV. The effect of the cell phone waves and severity noise on sperm motility and sexual hormones in male rats. *J Clin Res Paramed Sci*. 2014; 3(1): 7-15.
24. Lee W, Son Y, Jang H, Bae MJ, Kim J, Kang D, et al. Protective Effect of Administered Rolipram against Radiation-Induced Testicular Injury in Mice. *World J Mens Health*. 2015; 33(1): 20-9.
25. Hamidian Jahromi MJ, Kargar Jahromi H KM, Mozafar A, Bathaee sa MTS. Investigating 500 micro-tesla electromagnetic field effects on testicular tissue changes and hormones LH and testosteron in syrian mice race Balb/C. *Int J Biol Pharm Allied Sci*. 2014; 3(3): 296-303.
26. Zahedifar Z, Baharara J. Effect of Green Tea in Decreasing Electromagnetic Waves Damages. *Zahedan J Res Med Sci*. 2013; 17(3): 29-34.
27. Gupta U, Chaudhary R, Goyal PK. Post-treatment effects of *Alstonia scholaris* extract against radiation-induced biochemical alterations in Swiss albino mice. *Iran J Radiat Res*. 2010; 8(3): 169-77.
28. Mahdavi M, Mozdarani H. Protective effects of famotidine and vitamin C against radiation induced cellular damage in mouse spermatogenesis process. *Iran J Radiat Res*. 2011; 8(4): 223-30.
29. Wu FJ, Xue Y, Liu XF, Xue CH, Wang JF, Du L, et al. The protective effect of eicosapentaenoic acid-enriched phospholipids from sea cucumber *Cucumaria frondosa* on oxidative stress in PC12 cells and SAMP8 mice. *Neurochem Int*. 2014; 64: 9-17.

## **Evaluation the protective effect of Persian Gulf sea cucumber body extract (*Holothuria arenicola*) in prevention of injuries induced by electromagnetic field (50 Hz) on sperm and sexual hormones in Balb/C mice**

Vasei N<sup>1</sup>, Baharara J<sup>2\*</sup>, Zafar Balanezhad S<sup>1</sup>, Amini E<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Student, Biology Dept., Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I.R. Iran;

<sup>2</sup>Biology Dept., Research Center for Animal Development Applied Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I.R. Iran; <sup>3</sup>Animal Development Biology Dept., Kharazmi University, Tehran, I.R. Iran.

Received: 7/Jul/2015

Accepted: 11/Jan/2016

**Background and aims:** The studies has been shown that some natural compounds are effective in preventing injuries induced by electromagnetic fields (EMFs). The aim of this study was to investigate the protective effect of the Persian Gulf sea cucumber body extract against injuries induced by 50 Hz EMF on sperm parameters in Balb/C mice.

**Methods:** In this experimental study, mice were divided randomly into 7 groups including control (without treatment), sham (exposed to a power off EMF) and experimental groups 1,2,3,4 and 5. The experimental groups were exposed to EMF 4 h/day for 10 days. The experimental groups 2 to 5 received sea cucumber body extract (25,50,100,200 mg/kg) 6 h before radiation exposure. Then, the testosterone levels, LH, sperm morphology, motility and viability were measured. Statistical analysis was performed using SPSS software, one way ANOVA and Tukey post test ( $P<0.05$ ).

**Results:** Electromagnetic fields did not exert significant changes in LH level ( $P>0.05$ ), but EMF induced abnormalities in sperm morphology ( $22\pm0.008$ ), reduced sperm motility (12%), viability ( $57\pm0.16$ ), testosterone level ( $0.25\pm0.04$ ) and increased their body weight (38%) in electromagnetic group as compared with control. The hormonal and sperm evaluations showed that under exposure groups treated with sea cucumber extract had optimize reduction of sperm abnormalities in experimental group 4 ( $6\pm0.012$ ), motility elevation in experimental group 5 ( $64\pm0.008$ ) and elevation of sperm viability ( $77\pm0.01$ ) and the testosterone levels ( $1.12\pm0.26$ ) in experimental group 4 as compared with experimental group.

**Conclusion:** The results demonstrated that the sea cucumber extract possess protective effect against harmful effects of low frequency electromagnetic field in parameters such as sperm motility, viability and morphology in Balb/C mice.

**Keywords:** Sea cucumber, Electromagnetic field, Sperm, Mice.

**Cite this article as:** Vasei N, Baharara J, Zafar Balanezhad S, Amini E Evaluation the protective effect of Persian Gulf sea cucumber body extract (*Holothuria arenicola*) in prevention of injuries induced by electromagnetic field (50 Hz) on sperm and sexual hormones in Balb/C mice. J Shahrekord Univ Med Sci. 2016; 18(4): 81-93.

---

**\*Corresponding author:**

Biology Dept., Research Center for Animal Development Applied Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I.R. Iran. Tel: 00985138437092, E-mail: baharara78@gmail.com